

## **Estudios de Biodeterioro en las Ruinas de San Ignacio Miní, Misiones.**

**Núñez, Gabriela<sup>(1)</sup>; Küppers, Gabriela<sup>(2)</sup>; Guiamet, Patricia<sup>(3)</sup>,  
Gómez de Saravia, Sandra<sup>(4)</sup>**

*1: CITEC, Camino Centenario e/ 505 y 508 de M. B. Gonnet, Buenos Aires. Argentina.*

*2: Cátedra Zoología Invertebrados I, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Paseo del Bosque s/n, La Plata.*

*3, 4: Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA) Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas.*

*CONICET-UNLP. C.C. 16, Suc. 4, (1900), La Plata. E-mail: sgomez@inifta.unlp.edu.ar .*

*2, 3: CONICET. 4: CICBA.*

## **Biodeterioration Studies in the Ruins of San Ignacio, Miní Misiones**

### **Abstract**

The Ruins of San Ignacio Miní, located in the margins of the Paraná river, Misiones province, were declared as cultural heritage by the UNESCO in 1984. In their buildings prevails the rock red sandstone, which is typical from this region. The Mission of San Ignacio Miní should not be considered as a ruin, since the purpose of their preservation deals with the idea of establishing an intertemporal dialog with an extraordinary experience. Indians as well as Jesuits, had a way of life that preserved the identity of the guaraní culture. In this way, biodeterioration studies become very important to the implementation of protection acts and the consequent restoration. The aim of this work was studying the biological colonization of the Ruins and the effect in their biodeterioration. Biofilms samples were analyzed applying microbiological and microscopic techniques (light microscopy and scanning electron microscopy). The chemical study of colonized surfaces was also performed by the surface analytical techniques (EDX). Bacteria, cianobacteria, fungi, protozoa and lichens were

isolated from the samples. A synergistic effect of environmental factors and biological activity was observed, which can lead to chemical and/or physical deterioration of these constructions.

*Key Words:* Bacteria; Biodeterioration; Biofilms; EDX; Protozoa; Ruins of San Ignacio Miní.

## Resumen

Las Ruinas de San Ignacio Miní, emplazadas en las cercanías del río Paraná, provincia de Misiones, fueron declaradas patrimonio de la humanidad por la UNESCO en 1984. En sus construcciones predomina la piedra asperón rojo, típica de la zona. El conjunto de la Misión de San Ignacio Miní no debería ser visualizado como una ruina, el propósito de preservar su arquitectura tiene que ver con la idea de establecer un diálogo intertemporal con una experiencia extraordinaria. Tanto los indígenas como los jesuitas, construyeron una forma de vida que preservó la identidad guaraní. Es necesario entonces, llamar la atención sobre la necesidad de estudiar el biodeterioro que sufren estas construcciones y así, poder implementar medidas de protección y realizar las tareas sucesivas de restauración. El objetivo de este trabajo fue estudiar la colonización biológica de las Ruinas y el efecto en el biodeterioro de las mismas. Se tomaron muestras de los biofilms formados sobre las superficies, que luego se analizaron en el laboratorio utilizando técnicas microbiológicas y microscópicas (microscopía óptica y electrónica de barrido). Se realizó también el estudio químico de las superficies colonizadas utilizando el análisis de energía por dispersión de rayos x (EDX). Se aislaron bacterias, cianobacterias, hongos, protozoos y líquenes. Se observó un efecto sinérgico de los factores ambientales y la actividad biológica, que puede conducir al deterioro químico y/o físico de estas construcciones.

*Palabras clave:* Bacterias; Biodeterioro; Biofilms; EDX; Protozoos; Ruinas de San Ignacio Miní.

## Introducción

Las ruinas de San Ignacio Miní (Fig. 1), una misión jesuítica, se encuentran en la actual localidad de San Ignacio en la provincia de Misiones, distante unos 60 km de la capital provincial, Posadas.

Fueron declaradas Patrimonio Mundial de la Humanidad por la UNESCO en el año 1984 y es la mejor conservada de las misiones en territorio argentino. Su grado de conservación permite apreciar el trazado urbano de las reducciones, que según la visión europea, eran el lugar donde se reunía a los aborígenes para “civilizarlos”, convertirlos al cristianismo y evitar sus malos hábitos, como la desnudez Anónimo, (2006).

Un trazado urbano destacable, si bien no fue la reducción más grande sino la mejor equipada, sólo podía extenderse en tres direcciones por la presencia del huerto y la selva a espaldas del poblado Anónimo, (2006).

La planta de la misión es la común a la mayoría de las construidas por los jesuitas en la época. Alrededor de una plaza central se distribuyen la Iglesia, la Casa de los Padres, el Cementerio, las Viviendas y el Cabildo (Fig. 2). En la construcción de las Ruinas de San Ignacio Miní se empleó la piedra local, el asperón rojo, en grandes piezas. Otro elemento importante lo constituyó la madera, principalmente dura como el lapacho, urunday, quebracho y el



**Figura 1:** Fotografía de las Ruinas de San Ignacio Miní, Misiones.

cedro que sirvió para todo tipo de trabajos que debían pintarse o dorarse; también retablos y cualquier tipo de tallas.

La alteración de los materiales de construcción no es un fenómeno reciente, sino que ya era conocido en la antigüedad. Piedras, ladrillos o morteros expuestos a la acción agresiva del ambiente (sol, viento, lluvia, hielo, etc.) se han deteriorado gradualmente a través de los siglos, proceso en el que la actividad biológica juega un papel importante.

Las ruinas no han sido ajenas al paso del tiempo, han sufrido por lo tanto el efecto del ambiente (deterioro

ambiental-intemperismo) y el efecto del biodeterioro.

El biodeterioro puede definirse como cualquier cambio indeseable en las propiedades de un material ocasionado por la presencia de organismos Hueck, (1965). Cuando se trata del deterioro de la propiedad cultural, se define como el daño físico o químico efectuado por organismos en objetos, monumentos o edificios pertenecientes al patrimonio cultural. Casi todas las superficies en ambientes naturales pueden ser colonizadas por organismos, incluyendo las superficies de edificios y monumentos Mc Cormack *et al.*,



**Figura 2:** Esquema que muestra la distribución de las distintas construcciones de las Ruinas Anónimo, (2006).

(1996). Los mecanismos más relevantes por los cuales los organismos pueden inducir el biodeterioro de monumentos del patrimonio cultural son: i) la producción metabólica de ácidos; ii) la acción complejante de algunos componentes del material estructural; iii) la producción metabólica de surfactantes; iv) el biodeterioro por efectos mecánicos Videla, (2002 a). El medio ambiente juega un papel decisivo en el tipo y extensión del deterioro que sufre el patrimonio cultural.

La humedad y las altas temperaturas presentes en el lugar, sumadas a la polución natural y antropogénica, incrementan el riesgo del biodeterioro. Diferentes tipos de organismos tales como bacterias, cianobacterias, hongos, algas, musgos, líquenes y plantas vasculares participan en los procesos de biodeterioro Saiz Jimenez, (1994). Los microorganismos asociados al biodeterioro de los materiales crecen formando biofilms constituidos por células microbianas, material polimérico extracelular (MPE), agua, etc. creando películas mucilaginosas altamente adherentes al sustrato, al que afectan estéticamente y pueden llegar a degradar Videla,(2002 b).

El objetivo de este trabajo fue estudiar la colonización biológica de las Ruinas de San Ignacio Miní,

provincia de Misiones, y su efecto en el biodeterioro de las mismas. Se tomaron muestras de los biofilms formados sobre diferentes construcciones. Luego fueron analizadas en el laboratorio utilizando técnicas microbiológicas y microscópicas (microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido). Se realizó también un estudio químico de las superficies colonizadas utilizando el análisis de energía por dispersión de rayos X (EDX).

### **Metodología Empleada en los Estudios**

La toma de las muestras se realizó en dos períodos diferentes del año, otoño y primavera. Los sitios muestreados fueron: a) una de las paredes internas de la Sacristía, que presentaba biofilms de color verdosos; b) una pared externa del templo, que presentaba biofilms verdosos y negros; c) una de las paredes externas de la cárcel, cubierta por abundantes biofilms de color blanco; y d) una pared interna de las casas de los padres, cubiertas por biofilms de color verde y violáceos. El muestreo se llevó a cabo con el auxilio de una lupa de mano, un bisturí y una espátula y se colocó en recipientes estériles rotulados, como puede observarse en la Figura 3.





**Figura 3:** Fotografía de la toma de muestra de una pared externa de la cárcel. Puede observarse sobre la misma un biofilm blanco correspondiente a la presencia de líquenes.

Luego, las muestras se trasladaron al laboratorio y se procesaron dentro de las 24 horas de ser tomadas, siendo sometidas a medios de cultivo adecuados para cuantificar y tipificar bacterias y hongos Gómez de Saravia *et al.*, (2005). Se realizó también la búsqueda de diferentes grupos fisiológicos de bacterias con actividad proteolítica, amilolítica y lipolítica. Cuando no se procedió a un cultivo posterior de los microorganismos, cada una de las muestras se colocó en una solución de formol al 4 % en agua destilada y se transportó al laboratorio. Posteriormente se observó al microscopio óptico y se realizó una descripción morfológica e ilustraciones de cada una de las especies

encontradas (protozoos, cianobacterias, etc.). La información obtenida se analizó consultando claves de sistemática y bibliografía especializada Bourelly, (1985); Curds, (1982); Foissner *et al.*, (2001).

Pequeñas porciones de las muestras tomadas, se prepararon para su posterior observación al microscopio electrónico de barrido (MEB), JEOL JSM-6360 LV, del Museo de Ciencias Naturales de la ciudad de La Plata. Videla *et al.*, (2000).

Para caracterizar el material estructural y evaluar el deterioro se utilizó la técnica de análisis de energía de superficie por dispersión de rayos X (EDX).

## Resultados

En todos los lugares muestreados se encontraron bacterias aeróbicas heterotróficas mesófilas.

Se identificaron las bacterias *Clostridium* sp., en todas las muestras tomadas, y *Pseudomonas* sp., solamente en la muestra (d, viviendas). No se encontraron bacterias reductoras de sulfatos (BRS) en ninguno de los dos muestreos realizados (primavera y otoño).

El importante número de bacterias con actividad amilolítica registrado (valores entre  $140 \times 10^3$  UFC/cm<sup>2</sup> y  $30 \times 10^5$  UFC/Cm<sup>2</sup>), coincidiría con la presencia de gránulos de almidón en las muestras, los cuales fueron observados al microscopio óptico.

Las bacterias pueden atacar los sustratos mediante procesos químicos y físicos relacionados con la

formación de biofilms y a través de la excreción de diversos metabolitos. De esta manera, la presencia de bacterias con actividad acidificante y los diferentes grupos fisiológicos encontrados, estarían indicando un riesgo de biodeterioro, ya que la eliminación de metabolitos ácidos es uno de los mecanismos más frecuentes en el deterioro de los materiales estructurales, conocido con el nombre de biodeterioro biogeoquímico Resende *et al.*, (1996).

En la tabla N° 1 se mencionan los hongos identificados en las diferentes muestras. El número de hongos y levaduras presentes en las diferentes muestras fue más bajo en el muestreo de otoño ( $24 \times 10^1$  UFC/cm<sup>2</sup>) disminuyendo en tres órdenes de magnitud respecto del muestreo de primavera ( $2.5 \times 10^5$  UFC/cm<sup>2</sup>).

Muestra	Hongos
Templo (pared posterior)	<i>Trichoderma</i> sp.
	<i>Cladosporium</i> sp.
	<i>Micelia esterilia</i>
	<i>Penicillium</i> sp.
Cárcel	<i>Penicillium</i> sp.
	<i>Micelia esterilia</i>
	<i>Mucor</i> sp.
Viviendas	<i>Penicillium</i> sp.
	<i>Curvularia</i> sp.

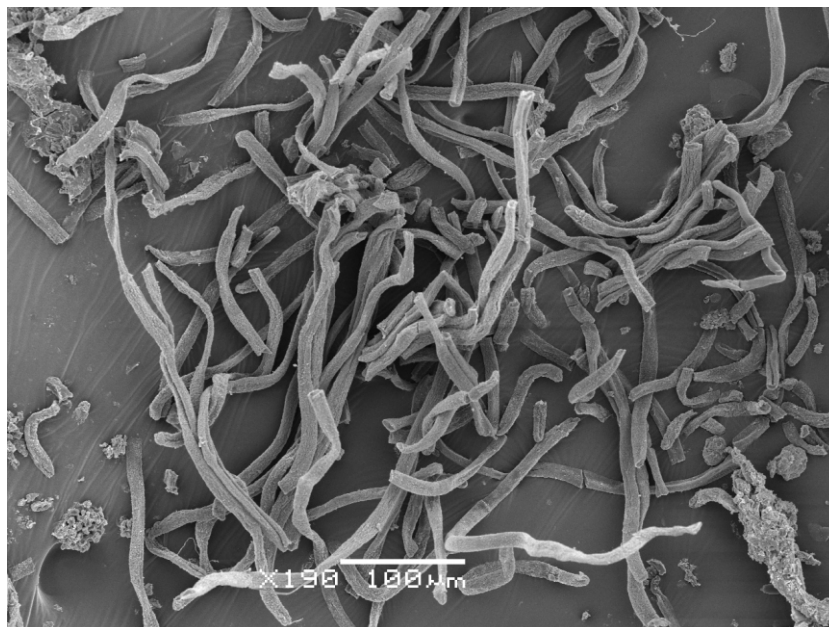
**Tabla N° 1.** Hongos identificados en las diferentes muestras (muestreo de otoño).

Los hongos pueden degradar los sustratos tanto de forma mecánica como química Koestler *et al.*, (1988). En el primero de los casos, las hifas fúngicas penetran el material estructural y provocan un disgregamiento del mismo, mientras que la degradación química ocurre con la producción de ácidos orgánicos e inorgánicos que desmineralizan los sustratos rocosos McCormack *et al.*, (1996). En la Figura 4 puede observarse la presencia de hifas fúngicas.

En el muestreo realizado en la primavera se identificaron los siguientes protozoos ciliados: *Colpoda steinii* Maupas, *C. inflata* (Stokes), *C. cucullus* (Mueller), *Colpoda* sp., *Cyclidium* sp.,

*Drepanomonas* sp., *Gonostomum affine* (Stein), *Epispathidium amphoriforme*, *Spathidium* sp. En el muestreo realizado en el otoño se identificaron los siguientes: *C. steinii* Maupas, *C. inflata* (Stokes), *C. cucullus* (Mueller), *Colpoda* sp1., *Colpoda* sp2, *Platyophrya* sp., *Spathidium* sp., *Litonotus* sp., *Gonostomum affine* (Stein), *Microthorax* sp., *Cyclidium* sp. y *Cinetochilum margaritaceum* (Ehrenberg)

Los ciliados que habitan musgos y líquenes presentan diferentes características morfológicas y fisiológicas que les permiten vivir en estos hábitats especiales Foissner, (1991). En este sentido, son capaces de formar quistes de resistencia y desa-



**Figura 4:** Microfotografía de MEB de la muestra de la Sacristía donde se observan hifas de hongos. Aumento x 190.



rollarse de forma óptima en presencia de poca agua, lo cual constituye el factor limitante y condicionante de los ciclos vitales de los mismos. Estos protozoos se alimentan de bacterias, hongos, algas y otras especies de ciliados que forman parte de la biocecosis, constituyendo un eslabón clave en las cadenas tróficas que allí se desarrollan. Si bien los ciliados no eliminan sustancias que puedan deteriorar el sustrato, los diferentes productos del metabolismo contribuyen a la colonización por parte de otros organismos y en consecuencia, a la formación de biofilms.

También se encontraron cianobacterias Croococcales y Stigonematales, diatomeas del género *Pinnularia*, líquenes del género *Caloplaca* (Fig. 5), musgos (Fig. 6),

flagelados aclóricos, rotíferos bdelloideos y nematodos. Se observaron también amebas testáceas de los géneros *Euglypha* y *Trinema*, además de tardígrados.

Las cianobacterias y algas son los primeros organismos que colonizan los sustratos por sus requerimientos de luz Ariño y Saiz Jiménez, (1996); Ortega Calvo *et al.*, (1991). Su presencia está representada por la aparición de biofilms verdosos. Producen un deterioro biogeofísico, atribuido a la mineralización de la clorofila presente en los biofilms de cianobacterias y algas Warscheid *et al.*, (1991); Warscheid y Braams, (2000).

Los líquenes y los musgos pueden producir un ataque mecánico y químico del material estructural. El



**Figura 5:** Fotografía de la pared de la cárcel donde se observa la presencia del liquen *Caloplaca* sp. (Blanco).

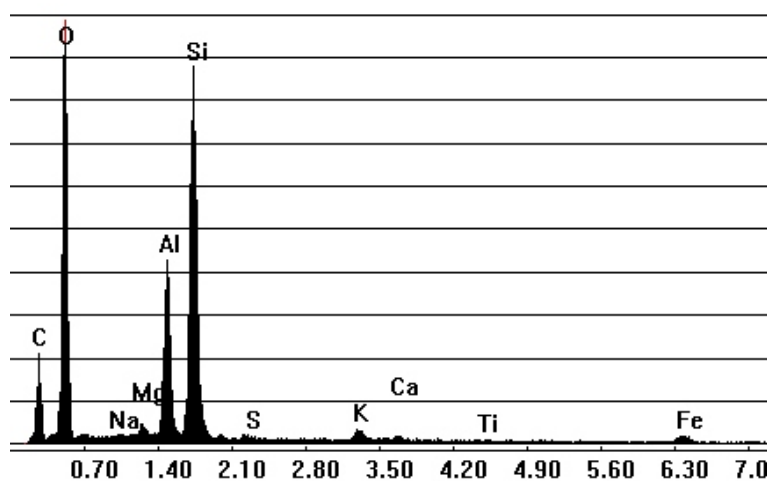


**Figura 6:** Fotografía de la pared del templo donde puede observarse la presencia de musgos.

primero ocurre a través de la penetración de hifas fúngicas y rizoides en el material y el químico, por la producción de ácidos tales como ácido carbónico, oxálico, etc., que pueden llegar a disolver los componentes del

material Saiz Jiménez, (1994).

El EDX realizado a la muestra del biofilm tomado de las viviendas (Fig. 7) revela picos de Si, y Al, que corroborarían el biodeterioro de tipo biogeoquímico.



**Figura 7:** EDX de la muestra de la Sacristía.

La coexistencia de bacterias, hongos, algas, protozoos, rotíferos, nematodos, tardígrados y la presencia de materia orgánica (gránulos de almidón, clorofila, cutículas de nematodos) sugiere una interacción ecológica entre estos organismos. Estos resultados se pueden relacionar con las investigaciones llevadas a cabo por Gorbushina y Petersen (2000).

### **Conclusiones**

La presencia de bacterias, hongos, líquenes y de los diferentes grupos fisiológicos bacterianos encontrados que excretan metabolitos ácidos, sumados a los resultados obtenidos de los estudios de EDX complementados con MEB, estarían indicando la presencia de un deterioro biogeoquímico en las Ruinas de San Ignacio Miní, que se traduce en la biosolubilización del material con el

que fueron construidas. Este tipo de biodeterioro puede potenciar marcadamente los efectos de los factores ambientales, como la humedad y las altas temperaturas presentes en el lugar, además de la polución natural y antropogénica.

### **Agradecimientos**

Los autores agradecen a la Universidad Nacional de la Plata (UNLP 11N 457), a la Comisión de Investigaciones Científicas de La Provincia de Buenos Aires (CICPBA, Res. 154/06), al Consejo de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET, PIP 6075/05). Al Arquitecto José Luiz Pozzobón de la Dirección de Ruinas de la Secretaría de Cultura de la provincia de Misiones por otorgar los permisos pertinentes para la recolección de muestras y a Gerardo y Valeria Küppers por su colaboración en los muestreos.

## Bibliografía

1. Anónimo (2006). Esquema de Ruinas de San Ignacio Miní. Website URL: <http://www.proyectoobra.com/misiones.asp> Revisado agosto de 2006.
2. Ariño X., Saiz-Jimenez C. (1996). Factors affecting the colonization and distribution of cyanobacterias. En: Proc. 8 th International Congress on Deterioration and Conservation of Stone, (J. Rieder ed), Vol. I, Berlin, págs. 725-731.
3. Burrell P. (1985). Les Algues d'eau Douce. Societe Nouvelle des Editions. Paris. 572 pp.
4. Curds C. R. (1982). British and other freshwater ciliated protozoa. Part 1. Ciliophora: Kinetofragminophora. Cambridge University Press, Cambridge. 387 pp.
5. Foissner W. (1991) Basic light and scanning electron microscopic method for taxonomic studies of ciliated protozoa. European Journal of Protistology, 27: 313-330.
6. Foissner W., Stoeck T., Schmidt H., Berger H. (2001). Biogeographical differences in a common soil ciliate, *Gonostomum affine* (Stein), as revealed by morphological and RAPD-fingerprint analysis. Acta Protozool 40: 83-97.
7. Gómez de Saravia S. G., Guiamet P. S., Küppers G. (2005). Two cases of biodeterioration of cultural heritage in Argentina. Abstracts Book 13 th International Biodeterioration and Biodegradation Symposium: 95. (García, A.M. y Moreno D., eds.)
8. Gorbushina A., Petersen K. (2000). Distribution of microorganisms on ancient wall paintings as related to associated faunal elements, International Biodeterioration & Biodegradation, 46: 277-284.
9. Hueck H. J., (1965). The biodeterioration of materials as a part of hylobiology. Material and Organisms 1: 5-34.
10. Koestler R. J., Santoro E. D., Druzik J., Preusser F., Koepp L., Derrick M. (1988). Status Report: ongoing studies of the susceptibility to stone consolidants to microbiologically induced deterioration. En: Biodeterioration 7 (Hugton DR, Smith RN, Eggins HOW, eds). Elsevier science, London, UK: 78-100.
11. McCormack K., Morton L. H. G., Benson J., Osborne B. N., McCabe R. W. (1996). A preliminary assessment of concrete biodeterioration by microorganisms. En: LABS 2, Proceedings Biodeterioration & Biodegradation in Latin America (Gaylarde CC, Saccol de Sá EL, Gaylarde PM, eds.). Porto Alegre, Brasil: 68-70.
12. Ortega-Calvo J. J., Hernandez-Marine H., Saiz-Jimenez C. (1991). Biodeterioration of building materials by cyanobacteria and algae. International Biodeterioration 28: 165-186.
13. Resende M. A., Resende G. C., Viana E. M., Becker T. W., Warscheid T. (1996). Acid production by fungi isolated from historic monuments in the Brazilian state of Minas Gerais. En LABS 2 (Gaylarde CC, Saccol de Sá EL, Gaylarde PM, eds.) .Porto Alegre, Brasil: 65-67.
14. Saiz Jimenez C. (1994). Biodeterioration of stone in historic buildings and monuments. En: Leewellyn, C., Dashek, W. V., O'Rear, C. E. (ed.): Biodeterioration Research 4, pp. 587-604. Plenum Press, New York.
15. Videla H. A., Guiamet P.S, Gómez de Saravia S. (2000). Biodeterioration of Mayan archaeological sites in the Yucatan Peninsula, Mexico. International Biodeterioration & Biodegradation 46: 335-341.
16. Videla H. A. (2002 a). Deterioro atmosférico y biodeterioro microbiológico del

- patrimonio cultural Iberoamericano. En: Memorias Jornadas Científico Tecnológico sobre Prevención y Protección del Patrimonio Iberoamericano de los Efectos del Biodeterioro Ambiental (H. A. Videla y C. A. Giudice eds.):31-47.
17. Videla H A. (2002 b). Biodeterioro de Monumentos Históricos de la Zona Maya. En: Memorias de Jornadas sobre Prevención y Protección del Patrimonio Cultural Iberoamericano de los Efectos del Biodeterioro Ambiental:11-29.
18. Warscheid T., Oetling M., Kumbrein W.E. (1991). Physico-chemical aspects of biodeterioration processes on rocks with special regard to organic pollutants. *International Biodeterioration* 28: 37-48.
19. Warscheid T., Braams J. (2000). Biodeterioration of stone: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation* 46:343-368.